Aus der Klinik und Poliklinik für Kieferchirurgie der

Universität Würzburg

Direktor: Professor Dr. Dr. F. Schröder

DEVITALISIERUNGSNACHWEIS VON KNOCHENZELLEN AN DER KANINCHENTIBIA NACH KRYOTHERAPIE

Inaugural-Dissertation

verfaßt und der

Hohen Medizinischen Fakultät

der

Julius-Maximilians-Universität Würzburg

zur

Erlangung der zahnmedizinischen Doktorwürde

vorgelegt von

Dieter Kleinhenz

aus Bad Kissingen

Würzburg, den 23. März 1980

Aus der Klinik und Poliklinik für Kieferchirurgie der

Universität Würzburg

Direktor: Professor Dr. Dr. F. Schröder

DEVITALISIERUNGSNACHWEIS VON KNOCHENZELLEN AN DER KANINCHENTIBIA NACH KRYOTHERAPIE

Inaugural-Dissertation

verfaßt und der

Hohen Medizinischen Fakultät

der

Julius-Maximilians-Universität Würzburg

zur

Erlangung der zahnmedizinischen Doktorwürde

vorgelegt von

Dieter Kleinhenz

aus Bad Kissingen

Würzburg, den 23. März 1980

Referent:	Prof. Dr. Dr. F. Schröder
Korreferent:	Priv. Doz. Dr. H.K. Kaufner
Dekan:	Prof. Dr. K.-H. Wulf

Tag der mündlichen Prüfung: 4. Juni 1980

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der
Universität Würzburg

MEINEN ELTERN GEWIDMET

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41543521_0068

INHALTSVERZEICHNIS

		Seite
1.	Einleitung	1
2.	Historische Grundlagen	3
3.	Material und Methode	5
	Grundlagen der Kryotherapie	5
	Methodik	6
	Meßverfahren	7
	Kühlungsvorrichtung	8
	Isolierung	10
	Materialprobleme	12
	Operation der Tiere	13
	Töten der Tiere	17
4.	Ergebnisse	18
5.	Diskussion	26
6.	Zusammenfassung	30
7.	Literaturverzeichnis	31

1. EINLEITUNG

Der chirurgische Eingriff und die radiologische Therapie stellen bis heute immer noch die üblichen Behandlungsmethoden für die meisten Tumoren dar.

Der alleinige Einsatz der Chemotherapie hat sich nicht bewährt. Ihre Anwendung beschränkt sich auf die Vorbehandlung zur Operation und als ultima ratio bei inoperablen Tumoren. Eine vierte Möglichkeit, die Kältechirurgie, ist als Einzeltherapie bisher nur bei Hauttumoren, Prostataadenomen und bei Hirnveränderungen eingesetzt worden. Zwar kann beim schnellen Kühlen mit der Kryosonde die anliegende Region devitalisiert werden, die Tiefen- und Breitenwirkung ist jedoch von zu vielen Imponderabilien (Blutdruck, Durchblutung usw.) abhängig. So schlugen auch alle Versuche fehl, Knochen mit größerem Durchmesser mit Kryosonden abzutöten.

Erst 1966 gelang es EMMINGS und Mitarbeitern Knochen eindeutig zu devitalisieren, indem sie flüssigen Stickstoff um den Unterkiefer eines Hundes durch einen Silikonschlauch zirkulieren ließen. Leitgedanke hierbei war es, den vom Tumor befallenen Knochen in situ durch die Kältewirkung abzutöten und als Matrix für die Regeneration zu belassen, die damals innerhalb eines halben Jahres stattfand. Ein derartiges Vorgehen ist vor allem bei malignen Tumoren im Unterkieferbereich für den Patienten wünschenswert, da durch die Erhaltung der Mandibula für ihn die funktionellen und psychischen Belastungen einer Unterkieferresektion mit Kontinuitätsunterbrechung entfallen.

Der Erfolg der Operation, die Beseitigung des Tumors, hängt von der völligen Devitalisierung des befallenen Knochenbezirks ab. Die

entscheidenden Parameter für den Grad der Devitalisierung sind Kühlungszeit, Kühlgeschwindigkeit und Durchblutungsintensität des befallenen Gewebes.

In der vorliegenden Arbeit soll untersucht werden, inwieweit die Devitalisierung von Hartgeweben von der Art der Kälteapplikation, der Kühlungszeit und der Kühlgeschwindigkeit abhängig ist. Die Versuche wurden an der Kaninchentibia vorgenommen.

2. HISTORISCHE GRUNDLAGEN

Der erste Bericht über die Verwendung von Kälte zur lokalen Krebsbehandlung stammt von JAMES ARNOTT aus London im Jahre 1840. Er versuchte das Wachstum einer Geschwulst zu verzögern, indem er einen Gummibeutel mit eiskalter Salzlösung auf den Behandlungsort plazierte.

OPENCHOWSKY kühlte 1883 verschiedene Bezirke der Hirnrinde bei Hunden. Dabei stellte er diskrete Läsionen, eine Vermeidung von Blutungen sowie eine lokalbegrenzte Zerstörung des Gewebes fest. Die durch das Verdunsten von Äther erzeugten Temperaturen von $-15^{\circ}C$ bis $-20^{\circ}C$ reichten nicht zur Devitalisierung größerer Gewebsbezirke aus.

WHITE 1899 führte die lokale Gewebsgefrierung mit flüssiger Luft in die Dermatologie zur Therapie von z.B. Warzen, Angiomen, Herpes zoster, Epitheliomen und Naevi ein. Im gleichen Jahr weist WHITEHOUSE ebenfalls auf die Behandlung derartiger Hauterkrankungen mittels flüssiger Luft hin.

FAY et al. wandten 1938 die lokale Kühlung bei inoperablen Karzinomen als Palliativmaßnahme an. Sie ließen Eiswasser durch eine Hohlkammer zirkulieren, die auf einem Zervixkarzinom plaziert wurde. Dadurch erzielten sie fast 5 Monate Schmerzfreiheit.

In den nächsten Jahren und Jahrzehnten wurde auf dem Gebiet der Kryotherapie intensiv experimentiert und geforscht. ROWBOTHAM et al. gelang es 1958 zum ersten Mal mit einer Kühlsonde, in der gekühlter Alkohol zirkulierte, Temperaturen von $-20^{\circ}C$ zu erreichen. Den entscheidenden Durchbruch in der klinischen Anwendbarkeit der Kältetherapie erzielten COOPER und LEE (1961), als

es ihnen gelang, mit einer Kälteeinheit, in der flüssiger Stickstoff als Kühlmedium diente, tiefe Temperaturen bis -196°C im Gewebe zu erzeugen.

COOPER benutzte seine Kälteeinheit zur Behandlung verschiedener zerebraler Erkrankungen und zur Zerstörung von Hirntumoren.

In den folgenden Jahren gewann die Kryotherapie immer mehr an Bedeutung und wurde ein fester Bestandteil in der Therapie vieler medizinischer Fachdisziplinen.

3. MATERIAL UND METHODE

Grundlagen der Kryotherapie

Die Kälte kann je nach Art der Anwendung, einmal zur Konservierung zum anderen zum Absterben von Zellen führen. Die entscheidende Rolle bei diesen Vorgängen spielt das Wasser. Es bildet den größten Teil der Gesamtkörpermasse und dient dabei im biologischen System als Lösungsvermittler. Vereinfacht dargestellt setzt sich das Körperwasser aus extra- und intrazellulärer Flüssigkeit zusammen. Bei der Überführung des Wassers aus dem flüssigen in den festen Aggregatzustand entstehen aus freiem Wasser Eiskristalle. Je nach Kühlgeschwindigkeit geschieht dies intra- und extrazellulär zu verschiedenen Zeitpunkten. Bei langsamer Kühlung gefriert zunächst das extrazelluläre Wasser, wobei das intrazelluläre Wasser bis zu $-15^{o}C$ ungefroren bleibt. Beim schnellen Gefrieren kommt es dagegen zu einer gleichmäßigen intra- und extrazellulären Eiskristallbildung und Absterben der Zellen. Der zelltötende Effekt der extremen Kälte beruht dabei auf der Denaturierung von Proteinen und der Zerstörung von Mikrostrukturen der Zelle.

Methodik

Als Versuchstiere stand ein Kollektiv aus zwölf ausgewachsenen männlichen und weiblichen Kaninchen mit einem durchschnittlichen Körpergewicht von 4 - 4,5 kg zur Verfügung. Sie wurden in Einzelkäfigen gehalten. Die Nahrung bestand aus gepreßtem Trockenfutter, das 24 Stunden vor der Operation wegen der Gefahr einer Aspiration bei der Narkose abgesetzt wurde.

Die Versuche wurden an der rechten Tibia vorgenommen. Um den jeweiligen Grad der Devitalisierung beurteilen zu können, wurde die Kühlungszeit beim ersten Tier von einer Minute ausgehend, um jeweils eine Minute, bis zu einer Höchstzeit von 12 Minuten beim letzten Tier gesteigert.

Meßverfahren

Entscheidend für das Gelingen des operativen Vorgehens ist es, jederzeit eine genaue Kontrolle über die Gefriertemperaturen zu haben. Zu diesem Zweck wurden die Temperaturen im Zentrum der Kühlregion, sowie ein Zentimeter proximal und ein Zentimeter distal von der Kühlkammer im Mark der Tibia gemessen. Die Messungen erfolgten mit Chromel-Alumel-Thermoelementen der Firma Phillips mit einem Durchmesser von 0,25 mm und 40 cm Länge. Um die Temperaturen aus den Kurven des Diagrammschreibers ermitteln zu können, war es erforderlich, vor Beginn der Messungen eine Eichkurve mit den Thermoelementen zu erstellen.

Kühlungsvorrichtung

Die Kühlvorrichtung besteht aus einer Thermosflasche mit einem Gummiverschluß, durch den zwei Glasröhrchen in die Flasche führen. An dem einen Röhrchen ist ein Silikonschlauch befestigt, an dessen Ende sich ein Pumpballon mit Manometer befindet. Das andere Röhrchen ist durch einen weiteren Silikonschlauch direkt mit dem eigentlichen Kälteapplikator, der Kühlmanschette nach WALLISER, verbunden (Abb. 1).

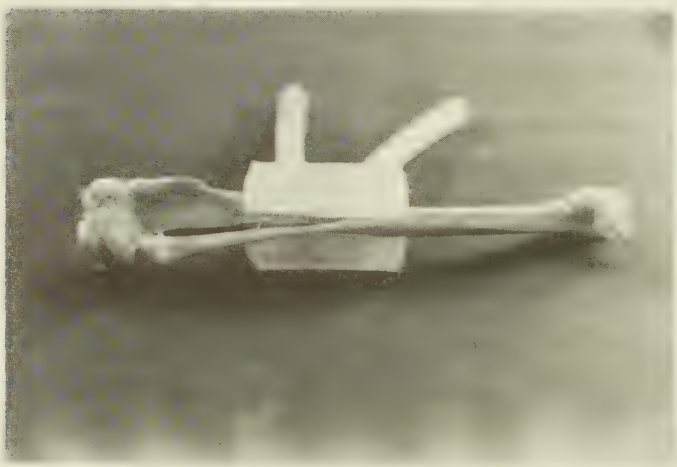

Abb. 1: Kühlmanschette nach WALLISER

Um die Kälte auf den Knochen zu übertragen, muß die vom Kühlmedium durchflossene Kühlmanschette der Oberfläche des Knochens allseitig dicht anliegen. Durch gleichmäßige Betätigung des Pumpballons wird der flüssige Stickstoff mit einem konstanten Druck von 50 mm Hg in den Hohlraum der Kühlkammer gedrückt.

Nach dem Durchfluß durch die Kühlkammer verdampft der Stickstoff gegenüber der Eintrittsstelle, durch Austritt aus einem weiteren Silikonschlauch an der Luft.

Als Kühlungsbeginn wird der Zeitpunkt genommen, in dem der Stickstoff durch die erste Betätigung des Pumpballons in die Kammer gepreßt wird.

Isolierung

Nach der Devitalisierung des umschriebenen Knochenbezirks ist zu dessen Revitalisierung ein intaktes, den Knochen umgebendes Weichteilgewebe, notwendig. Das Problem besteht darin, auf kürzester Distanz, die Temperatur der Kühlkammer von -185°C, gegen die Muskeltemperatur von +37°C, zu isolieren. Zu diesem Zwecke benutzten wir ein Heizelement, das WALLISER angegeben und SCHARGUS et al. modifiziert haben. Ein feiner Metalldraht aus der Speziallegierung Nikrothal von 0,08 mm Durchmesser ist um einen flexiblen Träger gewickelt. Der Gangabstand zwischen den einzelnen Windungen beträgt 5 mm. Träger und Heizdraht sind in Silikon eingebettet. Der Isolator ist 15 cm lang, 3 cm breit und 2 mm hoch. Die Gesamtfläche beträgt 18 cm^2. Die Temperatur wird über einen Schwachstromgenerator geregelt.

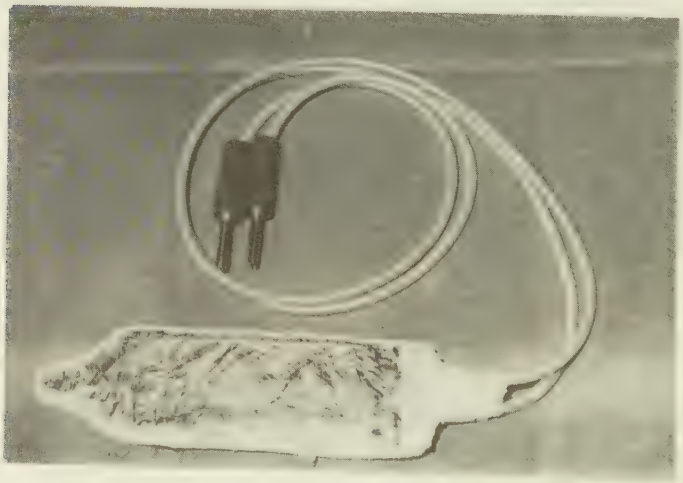

Abb. 2: Heizelement nach WALLISER modifiziert nach SCHARGUS et al.

Sie erreicht

nach 2 Minuten:	15 Volt, 0,093 Amp. 1,4 Watt	= 33°C
nach 4 Minuten:	20 Volt, 0,125 Amp. 2,5 Watt	= 44°C
nach 6 Minuten:	25 Volt, 0,140 Amp. 3,5 Watt	= 60°C

Zusätzlich zur Steigerung der Isolierwirkung wird auf die zur Kühlkammer hin liegende Seite des Heizelementes Staniolpapier geklebt.
Vor dem Kühlzyklus wird das Heizelement zwischen Kühlkammer, die der Tibia anliegt und abgelöstes Muskelgewebe geschoben. Werden -100°C im Knochen überschritten, muß die volle Heizwirkung eingesetzt werden.

Materialprobleme

Da die Kühlmanschette nur unter Deformierung um die Tibia gelegt werden kann, kommt dafür als Material nur ein weichbleibender Kunststoff in Frage. Am geeignetsten erwies sich der heißvulkanisierte Silikonkautschuk der Firma Wacker-Chemie. Obwohl der Silikonkautschuk schon bei $-10^{\circ}C$ seine Elastizität verliert, wurde bis zu Temperaturen von $-180^{\circ}C$ keine Bruchneigung festgestellt. Da die Manschette mit ihren Zu- und Abflüssen nicht aus einem Stück gefertigt werden kann, muß das Gerät aus mehreren Teilstücken zusammengeklebt werden. Dabei ist es wichtig, daß die Wärmeausdehnungskoeffizienten von Silikon und Klebstoff übereinstimmen.
Der Kleber hierfür war ein Erzeugnis von Wacker-Chemie SK 41. Die damit erzielten Verbindungen zwischen den einzelnen Silikonteilen sind so beständig, daß die Kammern mehrere Sterilisationen und Kühlzyklen überstehen.

Operation der Tiere

Die Tiere erhielten nach 24stündiger Nahrungskarenz 2 ml Rompun® (2- (2,6-Xylidino) -5,6- dihydro- 4H- 1,3-thiazin-hydrochlorid) als Prämedikation intramuskulär. Die eigentliche Narkose wurde mit einem Gemisch aus Nembutal® und Kochsalz im Verhältnis 1:4 mit der geringstmöglichen Dosis vorgenommen. Als venöser Zugang diente eine Ohrvene, in die ein Säuglingskatheter von 0,7 mm Durchmesser fixiert wurde. Um im Operationsgebiet völlige Schmerzfreiheit zu erzielen, infiltrierten wir dort 1-2 ccm einer 1%igen Novocainlösung® mit einem Adrenalinzusatz von 1:1000. Nach einem Hautschnitt schoben wir die Muskulatur zur Seite und legten die Tibia frei. Anschließend lösten wir vorsichtig mit einem Raspatorium das Periost des Knochens ab (Abb. 3).

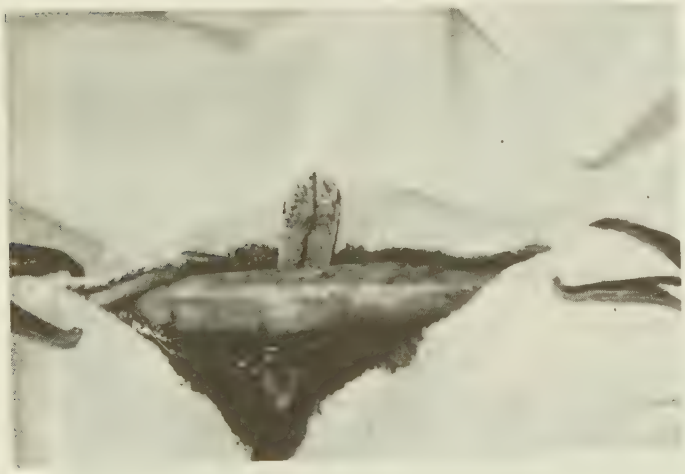

Abb. 3: freigelegte Tibia

Kühlkammer und Heizisolator sowie die Thermoelemente (Abb. 5) wurden plaziert (Abb. 4 und 5).

Abb. 4: Heizelement in situ zwischen Tibia und Muskulatur

Abb. 5: Heizelement, Kühlkammer und Thermoelement in situ

Dann wurde flüssiger Stickstoff mit einem Druck von 50 mm Hg in die Kühlkammer geleitet. Anhand der Kühlkurve, Abb. 6, kann man erkennen, daß die Knochentemperatur erst nach 4 Minuten abfällt.

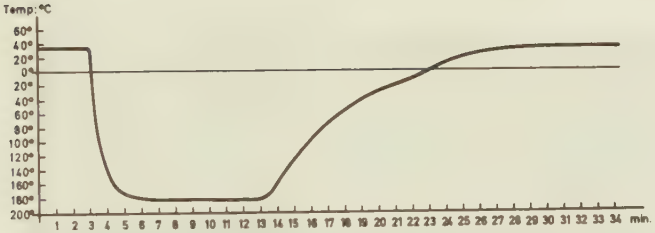

Abb. 6: Typischer Verlauf der Kühlkurve

Nach 1 - 12 Minuten Kühlzeit wurde die Kühlmittelzufuhr unterbunden. Während der ersten 3 Minuten der Kühlung erfolgte kein Temperaturabfall im Knochen. In der 4. Minute beobachteten wir einen Temperatursturz auf -140°C. Von der 5. Minute ab blieb die Temperatur konstant auf -185°C. Nach der Kühlung taute der Knochen langsam bei Zimmertemperatur auf, um den Rekristallisierungseffekt auszunutzen. Erst wenn der Knochen wieder Körpertemperatur erreicht hatte, wurden Kühlkammer, Heizelement und Thermofühler entfernt und die Wunde schichtweise mit fortlaufenden Nähten verschlossen (Abb. 7).

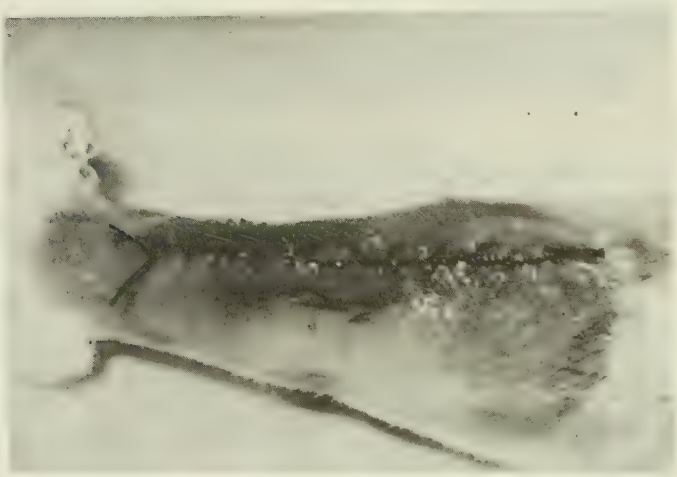

Abb. 7: Verschluß durch fortlaufende Naht nach Op.

Töten der Tiere und Fixation der Präparate

Die Tiere wurden 6 Tage nach der Kälteapplikation durch Injektion von 2 ml Nembutal® in die Ohrvene getötet. Die gekühlte Tibia wurde freipräpariert, entfernt und mit EDTA entkalkt. Zur Einfärbung der Schnittpräparate verwendeten wir die Kernfärbung mit Kernechtrot oder Delafield'schem Hämalaun.

4. ERGEBNISSE

Makroskopisch waren keine Unterschiede zwischen ein- und zwölfminütiger Kühlung festzustellen. Der Umfang der vereisten Zonen beiderseits der Kühlmanschette nahm mit der Dauer der Kühlungszeit zu und zwar bis zu 2 cm proximal und distal der Manschette.

Da die Knochentemperatur erst nach 4 Minuten Kühlung absank, waren vorher mikroskopisch keine Zellenstrukturveränderungen zu erwarten. Die ersten Veränderungen wurden demzufolge erst 4 Minuten nach Beginn der Kälteexposition bemerkt. In den periostnahen Gefäßen waren ganz deutlich Chromatintrümmer zu erkennen, die von zerfallenen Blutzellen stammten. Erste Reaktionen des Markes zeigten sich nach vierminütiger Kühlung durch Einwanderung von Leukozyten aus den nichtgekühlten Randzonen (Abb. 8).

Abb. 8: Leukozyteneinwanderung ins Knochenmark H. E. Färbung
Vergrößerung: 18x

In der Corticalis sind periostnah schon die ersten leeren Lakunen zu erkennen, sonst sind die meisten Zellen jedoch unverändert (Abb. 9).

Abb. 9: Periostnahe leere Knochenzellen H.E. Färbung
Vergrößerung: 18x

Eine Minute später, nach 5 Minuten, zerfallen subperistal Osteozyten (Abb. 10).

Abb. 10: H.E. Färbung. Zerfallene subperiostale Osteozyten
Vergrößerung: 46x

Einzelne Lakunen sind leer. Unter dem Endost sind fast alle Osteozyten unverändert, nur selten ist eine zerfallene Zelle zu sehen (Abb. 11).

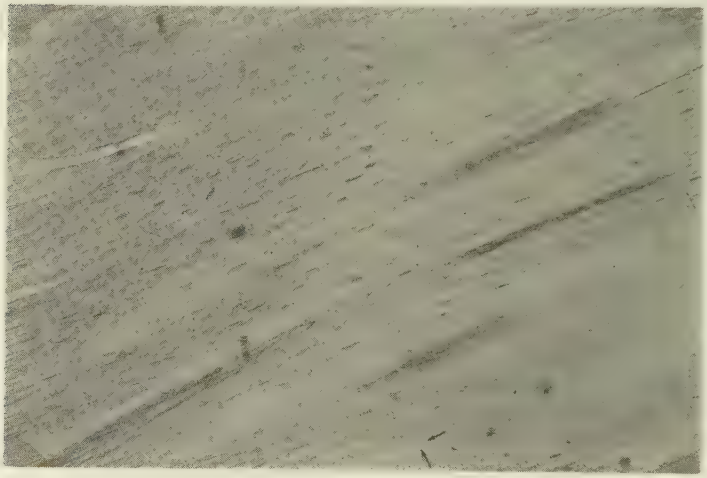

Abb. 11: Zerfallene Osteozyten H.E. Färbung Vergrößerung: 46x

Nach 6 Minuten ist der größte Teil des gekühlten Markes zelleer (Abb. 12)

Abb. 12: total zelleeres Mark H.E. Färbung Vergrößerung: 12x

Zwischen Endost und Mark gibt es vereinzelt Inseln, in denen noch vitale Zellen vorhanden sind (Abb. 13).

Abb. 13: H.E. Färbung / Knocheninsel zwischen Endost und Mark, die noch vitale Zellen enthält. Vergrößerung: 9x

7 Minuten nach Beginn der Kälteeinwirkung befinden sich die Knochenzellen der gesamten Corticalis in Auflösung oder sind verschwunden (Abb. 14). Vergrößerung: 46x

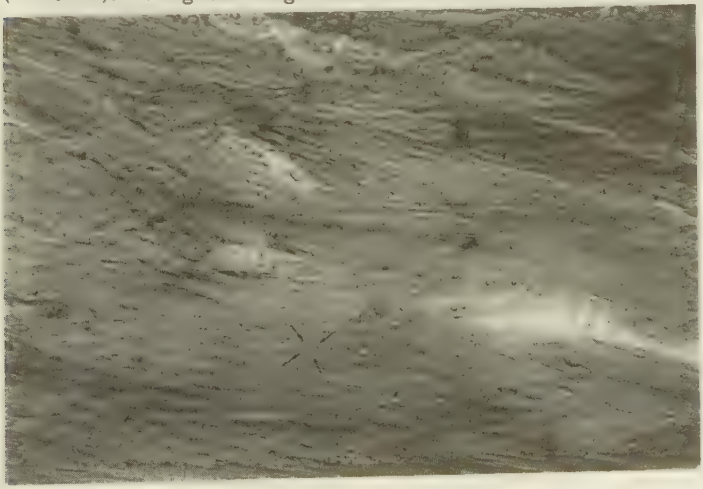

Abb. 14: H.E. Färbung . Zerfallende Knochenzellen der Cortcalis

Nach 8 Minuten erscheinen die meisten Lakunen leer und erweitert (Abb. 15).

Abb. 15: H.E. Färbung, leere Lakune. Vergrößerung 21x

Nach 10 Minuten Kälteexposition sind in der gesamten Kompakta nur noch leere, erweiterte Lakunen zu finden (Abb. 16).

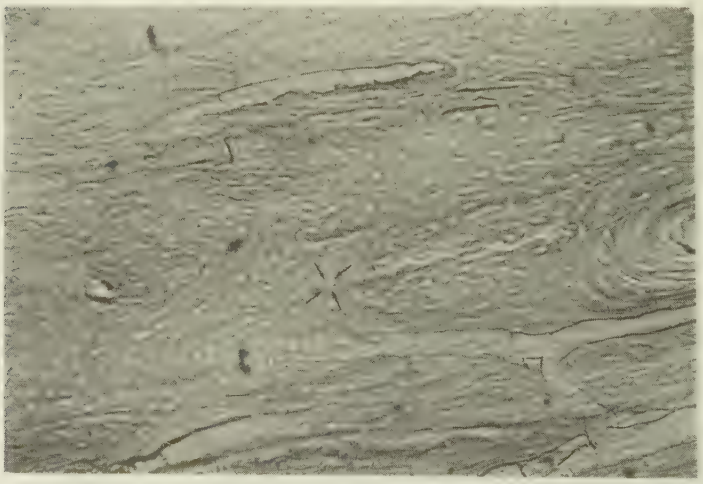

Abb. 16: H.E. Färbung, total devitaler Knochen mit nur leeren Lakunen. Vergrößerung 46x

Damit beginnt die vollständige Devitalisierung der gekühlten Kaninchentibia erst 10 Minuten nach Kühlungsbeginn.

Die Stadien des Osteozytenuntergangs sind an der Randzone der Unterkühlung nebeneinander sichtbar, wie SCHARGUS et al. angegeben haben:

1. Die Osteozytenlakune ist erweitert, der normalerweise schmale und längliche Kern ist vergrößert, abgerundet und hat seine Chromatindichte verloren. Das Cytoplasma ist auffallend doppelbrechend.

2. Die Kerne werden pyknotisch und liegen dezentral und deformiert am Rand der erweiterten Lakune (Abb. 17).

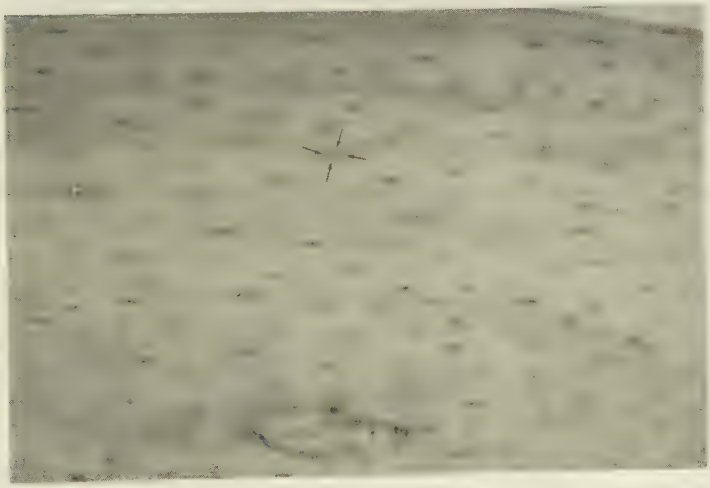

Abb. 17: H. E. Färbung: zerfallende Knochenzellkerne
Pfeil: Stadium II = pyknotische Kerne.
Vergrößerung 46x

3. Kern- und Cytoplasmareste sind als schmaler Saum an den Rand der noch weiter vergrößerten Lakune gedrängt, offenbar bis hinein in die feinsten, für die Osteocytenfortsätze bestimmten Knochenkanälchen. Die Lakunen erscheinen dadurch wie mit Stacheln besetzt (Abb. 18).

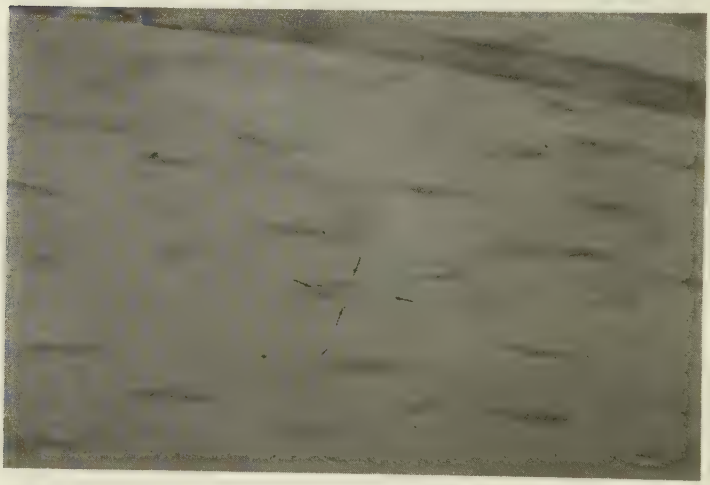

Abb. 18: H.E. Färbung. Stadium III: Kern und Cytoplasmareste am Rande der Lakunen. Vergrößerung 46x

4. Die Osteozytenlakune ist weit und leer (Abb. 19).

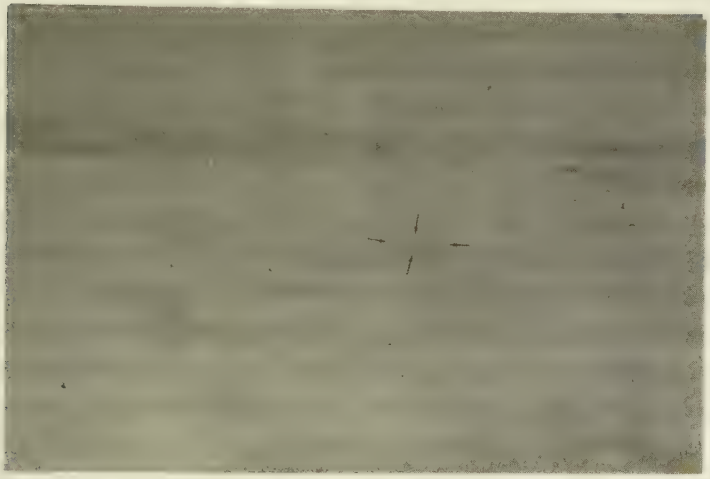

Abb. 19: H.E. Färbung, leere Osteozytenlakunen. Vergrößerung 46x

Die Stadien des Osteozytenuntergangs sind in Abb. 20 schematisch zusammengefaßt. Die Anfärbbarkeit des Osteoids der unterkühlten Zone ist erheblich vermindert, in den HAVERS'schen Kanälchen liegen Kerntrümmer.

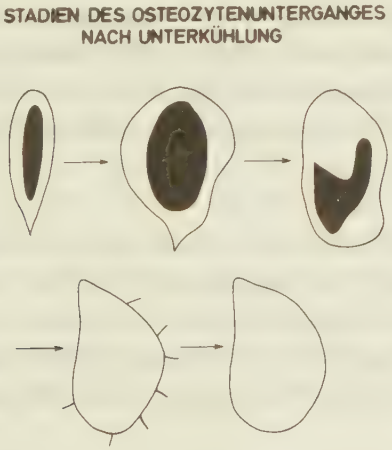

Abb. 20: Die Stadien des Osteozytenuntergangs

5. DISKUSSION

Die vorliegenden Versuchsergebnisse zeigen, daß in den ersten 3 Minuten der Kühlung kein Abfallen der Knochentemperatur zu beobachten ist. Somit können auch keine Veränderungen in der histologischen Struktur des Knochens erwartet werden. Zuerst muß die durch Knochen und Heizisolator erwärmte Kammer selbst gekühlt werden, bis eine Kälteabgabe an den Knochen möglich ist. EMMINGS et al. sahen bei der Kühlung des Hundeunterkiefers mittels zirkulärer Schlauchwindungen nach 3 Minuten Kühldauer einen Temperaturabfall auf $-43^{o}C$ und nach 6 Minuten auf $-142^{o}C$. Bei unseren eigenen Versuchen fiel die Temperatur erst nach 3 Minuten im Knochen ab. Zwischen der vierten und fünften Kühlminute kam es dann zu einem Temperatursturz mit einer Gefriergeschwindigkeit von $180^{o}C$ pro Minute. Die ideale Kühlgeschwindigkeit von $100^{o}C$ pro Minute zur sicheren Devitalisierung wurde somit nicht nur erreicht, sondern beträchtlich überboten. Das Temperaturmaximum von $-185^{o}C$ erzielten wir 6 Minuten nach dem Temperatursturz. EMMINGS gelangte bei der Kühlung der Hundemandibula nach 7 Minuten an seine Maximaltemperatur von $-155^{o}C$.

Gemäß dem Kühlverlauf verhielt sich der Knochen, wie wir aus den histologischen Präparaten ersehen können: Nach 4 Minuten zeigt sich als erste Kältereaktion eine Einwanderung von Leukozyten ins Mark. Daneben sieht man vereinzelt leere Lakunen in der periostnahen Corticalis.

Der direkten Angriffszone der Kälte entsprechend, zerfallen im Laufe der nächsten Minuten periostnah weitere Zellen. Die Lakunen sind zum Teil in den knochenhautnahen Bezirken schon nach 5 Minuten leer. Endostal beginnt die Zellauflösung im Mark erst zwischen der sechsten und siebten Kühlminute. Nach 7 Minuten fängt

die generalisierte Knochenzellauflösung an. Eine Minute später sieht man überall im Knochen massenhaft leere Zellräume. 10 Minuten nach Kühlbeginn findet man in der gesamten Kompakta nur noch leere, erweiterte Lakunen. Die Kälte muß also bei einem derartig dimensionierten Knochen, unter Verwendung einer Durchströmungskammer, mindestens 9, besser 10 Minuten einwirken, um alle Zellen abzutöten.

Zu dem gleichen Ergebnis kommt SCHÄFER bei seinen Untersuchungen über die Regenerationsvorgänge nach Kältebehandlung an der Kaninchentibia. Er konnte histologisch nachweisen, daß mit einem einzigen Kühlzyklus von 10 Minuten Dauer der gesamte Knochen innerhalb des Kühlbezirks devital wurde.

GAGE und Mitarbeiter kühlten die Hundetibia 5, 10 und 15 Minuten lang mit um den Knochen gewickelten Silikonschläuchen. Dabei konnten keine Unterschiede im Devitalisierungsgrad der unterschiedlich lang gekühlten Knochen festgestellt werden. Sie fanden, daß eine Woche nach der Kühlung, mikroskopisch eine vollkommene Devitalisation des vorher gekühlten Knochens mit einer scharfen Trennlinie zwischen toten und lebenden Knochen erkennbar war.

Die histologischen Präparate einer devitalisierten Hundemandibula von EMMINGS und Mitarbeitern ähneln den bereits beschriebenen Bildern: Bei 15minütiger Kühlung waren im gefrorenen Segment alle Zellen tot und die Lakunen leer. Vom lebenden Knochen wuchs lockeres, zellenreiches, fibröses Bindegewebe in die vorher gefrorene Region ein. HAUSAMEN setzte unter Anlehnung an die Versuchsanordnung von GAGE et al. lokalisierte Kälteherde am Unterkiefer von Kaninchen. Er verwendete dabei eine offene Kältesonde, mit der er den Knochen zweimal 5 Minuten unter spontanem Zwischenauftauen vereiste; dabei betrug die Temperatur 2 mm unter dem

Sondenkopf -162°C. Als wichtigste Beobachtung zeigte sich, daß im gesamten Kälteherd, bereits 3 Tage nach der Kälteanwendung, keine vitalen Zellen mehr nachgewiesen werden konnten.

LENZ stellte Untersuchungen über Wachstumsstörungen der Kniegelenke nach Kryotherapie bei jugendlichen und erwachsenen Kaninchen an. Es kam durch Kühlung in der Nähe der Wachstumszentren bei jugendlichen Kaninchen zu Deformitäten und Wachstumsinsuffizienz der Extremitäten. Bei ausgewachsenen Tieren mit vollständig verknöcherter Epiphysenfuge beobachtete LENZ, wie auch andere Autoren (GAGE et al., EMMINGS et al.) eine Nekrose des Knochens, während das kollagenfaserige Grundgerüst vollständig erhalten blieben.

MARCOVE sowie MARCOVE et al. berichten über die erfolgreiche Behandlung von Patienten mit primären und metastatischen Knochentumoren durch wiederholte Vereisungen. Sie verwendeten dazu je nach Art und Lokalisation des Tumors entweder eine Kältesonde, oder füllten das flüssige Kühlmittel mit einem Trichter direkt in den exkochleierten Knochen.

LENZ tauchte den Knochen mitsamt den Weichteilen in flüssigen Stickstoff. Diese Methode ist sicherlich klinisch nicht anwendbar. HAUSAMEN verwendete Kryosonden, wie es schon GAGE angab, allerdings kann man den Knochen nicht mit diesem Vorgehen exakt devitalisieren.

Die Methode von MARCOVE läßt sich nur bei cystischen Tumoren mit Knochenhöhle anwenden. Außerdem ist das Problem der Weichteilisolierung nicht zufriedenstellend behandelt worden.

Mit der von uns verwendeten Kühlkammer von WALLISER und der Heizisolation von WALLISER modifiziert von SCHARGUS et al. läßt sich, wie in dieser Arbeit bewiesen werden konnte, ohne Weichteilzerstörung, innerhalb von 10 Minuten, allerdings bei Einhaltung aller besprochenen Faktoren, wie Kühlzeit, Kühlgeschwindigkeit und Weichteilisolierung, eine exakt bestimmbare Knochenpartie, sicher devitalisieren. Aus Sicherheitsgründen sollte man den ganzen Kühlzyklus verlängern, oder ein zweites Mal durchführen, wenn auch von anderen Autoren angegeben wird, daß ein einziger Kühlzyklus im Experiment ausreichend gewesen ist.

6. ZUSAMMENFASSUNG

Das Ziel dieser Arbeit war es, zu untersuchen, inwieweit der Devitalisierungsgrad von Hartgeweben von der Kühlungszeit bei vorgegebener Kühlgeschwindigkeit abhängig ist. Die Versuche wurden an der Kaninchentibia vorgenommen, wobei die Kühlungszeit beim ersten Tier von einer Minute ausgehend um jeweils eine Minute bis zu einer Höchstzeit von 12 Minuten beim zwölften Tier gesteigert wurde.

Eine Woche nach Kühlungsbeginn wurden die Tiere getötet, die gekühlte Tibia freipräpariert, entfernt und mit EDTA entkalkt. Man färbte die Kerne der entkalkten Präparate mit Delafield'schem Hämalaun oder Kernechtrot.

Unter diesen experimentellen Bedingungen wurde der Knochen nach 10minütiger Kühlung, ohne aus dem Körper entfernt worden zu sein, völlig devitalisiert. Dabei war eine scharfe Trennungslinie zwischen totem und lebendem Gewebe zu beobachten. Die devitalisierte Knochenstruktur verblieb dabei als Matrix für den neu zu bildenden Knochen. Die Tatsache, daß gesunder Knochen in situ mit der geeigneten Technik devitalisiert werden kann, läßt erwarten, tumorösen Knochen mit seiner labileren Stoffwechselsituation auf dieselbe Art und Weise zu devitalisieren. So könnte versucht werden, ob umschriebene Knochentumore bei ausgesuchten Patienten gezielt beseitigt werden können. Könnte eine komplette Devitalisierung aller Tumorzellen im Knochen erreicht werden, wäre möglicherweise ein Weg gefunden, in bestimmten Fällen eine Knochenresektion oder Amputation zu ersparen.

7. LITERATURVERZEICHNIS

ARNOTT, J. — On the remedial local application of heat and cold. Lancet 2, 439 (1841)

COOPER, J.S. LEE, A.S. — Cryostatic congelation: A system for producing a limited controlled region of cooling or freezing of biological tissues. J. Nerv and Mental Disorders 133, 259 (1961)

COOPER, J.S. LEE, A.S. — Cryothalamectomy - hyperthermic congelation: A technical advance in basal ganglia surgery. J.Amer.Geriat. Soc. 9, 714 (1961)

COOPER, J.S. — A cryogenic method for physiologic inhibition and production of lesions in the brain. J. Neurosurg. 10, 853 (1962)

COOPER, J.S. — A new method of destruction or extirpation of benign or malignant tissues. New. Engl. J. Med. 268, 743 (1963)

COOPER, J.S. — Cryothalamectomy - Surgical technique in: Cryosurgery Hsg.: Rand, Rinfrft and Leden Thomas Springfield (1968)

COOPER, J.S. — The present status of cryogenic surgery. In: Latest Developments in Cryosurgery.

EMMINGS, F.G.
NEIDERS, M.E.
GREENE, G.W.
KOEPF, S.W.
GAGE, A.A. — Freezing the mandible without excision. J. oral Surg. 25, 320 (1966)

FAY, T.B.S.
HENNY, G.G. — Symposion on cancer. Surg. Gyn. & Obstetr. 66, 512 (1938)

GAGE, A.A.
KOEPF, S.W.
WEHRLE, D.
EMMINGS, F.G. — Cryotherapy for cancer of the lip and oral cavity. Cancer 18, 1646 (1965)

GAGE, A.A.
GREENE, G.W.
NEIDERS, M.E. — Freezing bone without excision. An experimental study of bone cell destruction and regrowth. J.A.M.A. 192, 558 (1965)

GAGE, A.A.
GREENE, G.W.
NEIDERS, M.E. — Freezing bone without excision. J.A.M.A. 196, 770 (1966)

GAGE, A.A.
GONDER, J.M.
SOANES, W.A.
EMMINGS, F.G. — Cancer therapy. Military Med. 132, 550 (1967)

GAGE, A.A.
KOEPF, S.W.
Treatment of oral cancer.
J. of Cancer 1, 175 (1968)

GAGE, A.A.
EMMINGS, F.G.
Treatment of human tumors by freezing.
Cryobiology 2, 14 (1968)

GAGE, A.A.
ERICKSON, R.B.
Cryotherapy and curettage for bone tumors.
J. of Cryosurg. 1, 60 (1968)

HAUSAMEN, J.E.
Tierexperimentelle Untersuchungen zur Knochendestruktion und Regeneration am Kaninchenkiefer nach kryochirurgischer Behandlung.
Dtsch. zahnärztl. Z. 28, 836 (1973)

HAUSAMEN, J.E.
Klinische und experimentelle Untersuchungen zur Kryochirurgie im Kiefer- und Gesichtsbereich.
Die Quintessenz, Berlin (1974)

LENZ, H.
PREUSSLER, H.
Wirkungen des Kryoeffektes auf den wachsenden Knochen.
Laryng. Rhinol. 54, 317 (1975)

MARCOVE, R.C.
MILLER, T.R.
CAHAN, W.C.
Treatment of bone tumors by freezing.
Bull. N.Y. Acad. Med. 44, 532 (1968)

MARCOVE, R.C.
LYDEN, J.P.
HUVOS, A.G.
BULLOUGH, P.B.
Giant cell tumours treatment by cryosurgery.
In: Latest developments in cryosurgery.
Hrsg.: Haschek
Wiener Medizinische Akademie, Wien (1972)

OPENCHOWSKI, P.
Sur l'action localisee du froid, applique a la surface de la region cortical du cerveau.
C.R. Soc. Biol. 35, 38 (1883)

ROWBOTHAM, G.F.
Cooling cannula for use treatment of cerebral neoplasma.

HAIGH, A.L.
LESLIE, W.G.
Lancet 1, 12 (1959)

SCHARGUS, G.
STEINEMANN, S.
PERREN, S.M.
Unveröffentlichte Versuche 1968 im Institut für experimentelle Chirurgie in Davos, Schweiz.

SCHARGUS, G.
WINCKLER, J.
SCHRÖDER, F.
Cryosurgical devitalisation of bone and its regeneration.
J. max. fac. Surg. 2, 128 (1975)

SCHARGUS, G.
Kryochirurgische Devitalisierung des Schweineunterkiefers durch ein variables Kühlsystem.
Dtsch. Z. Mund-Kiefer-Gesichts-Chir. 1, 145 (1977)

SCHÄFER, B. Untersuchungen über die Revitalisierung von Kryochirurgisch Devitalisierter Kaninchentibia durch Polychrome Sequenzmarkierung. Dissertation 1978 Würzburg

WALLISER, A. Technik der Cryochirurgie am Knochen Inaugural Dissertation Basel (1972) (Med. Diss. 274)

WHITE, A.C. Liquid air in medicine and surgery. Med. Rec. N.Y. 56, 109 (1899)

WHITE, A.C. Possibilities of liquid air to the physician. J. Amer. med. Ass. 36, 426 (1901)

WHITEHOUSE, H.H. Liquid air dermatology, its indication and limitations. J. A.M.A. 49, 371 (1907)

Für die Überlassung des Dissertationsthemas und für die Übernahme des Referates möchte ich Herrn Professor Dr. Dr. F. Schröder meinen herzlichen Dank aussprechen.

Für die Übernahme des Korreferates danke ich Herrn Priv. Doz. Dr. H. K. Kaufner.

Ebenso gilt mein herzlicher Dank Herrn Dr. Dr. habil. G. Schargus für die Unterstützung und die Anregungen während der Arbeit.

LEBENSLAUF

Am 26.7.1951 wurde ich als zweiter Sohn des Kaufmanns Kurt Kleinhenz und seiner Frau Maria in Bad Kissingen geboren.

Besuch der Volksschule und anschließend des Neusprachlichen Gymnasiums in Bad Kissingen. Das Abitur bestand ich am 20.6.1970.

Ab Oktober 1970 Studium der Zahnheilkunde an der Universität Würzburg mit dem Examen am 27. September 1976.
Anschließend halbjährige Assistenzzeit bei Dr. Dittmer in Würzburg. Vom Juli 1977 bis September 1978 leistete ich meinen Wehrdienst als Stabsarzt ab.
Eine weitere Assistenzzeit folgte ab November 1978 bis November 1979 bei Dr. Schöning in Düsseldorf. Zur Zeit arbeite ich als Assistent bei Dr. Michel in Würzburg.

Kleinhenz Peter

Dissertationsdruck
Schmitt & Meyer

Würzburg Ludwigkai 28a Tel. 7 23 80

Dissertationsdruck
Schmitt & Meyer

Würzburg Ludwigkai 28a Tel. 7 23 80